クワズイモによる食中毒の発生とPCR法による検査について

衛生化学部　○高山 清子、前田　智子、西村 幸江、上原　直美、
鈴木 郷、木下　和昭、竹原 瑛梨奈、野口 辰美

1　はじめに

クワズイモ（*Alocasia odora*）は、暖帯から亜熱帯に分布するサトイモ科クワズイモ属植物であり、食用であるサトイモ科サトイモ属のサトイモ（*Colocasia esculenta*）の塊茎やハスイモ（*Colocasia gigantea*）の葉柄（はすがら）に外観が類似しているため、誤食による食中毒が全国的で平成21～30年に13件、本県においては、この間3件、令和元年にも1件発生している。クワズイモによる食中毒の毒性成分は、不溶性シュウ酸カルシウムの針状結晶であり、光学顕微鏡による針状結晶の観察やHPLC分析が紹介されている[1)]。今回、クワズイモ食中毒発生時に、迅速かつ精度の高い検査結果を得ることを目的として、クワズイモ、はすがら、サトイモに含まれるシュウ酸カルシウム濃度の定量、シュウ酸カルシウム結晶の光学顕微鏡観察、植物種や属に固有の塩基配列を指標としたPCR法によるクワズイモの鑑別試験を実施したので報告する。

2　対象と方法

1）対象

令和元年に依頼があった2検体（①喫食味噌汁の残り、②味噌汁具に使用した茎の残り）、クワズイモ（葉柄）、はすがら（葉柄）、サトイモ（塊茎）の5検体を試料とした。

2）クワズイモ、はすがら、サトイモに含まれるシュウ酸カルシウムの定量

小坂ら[2)]、森岡ら[3)]の報告を参考に、試料に塩酸を加え熱水抽出することで総シュウ酸濃度を、試料の水抽出により可溶性シュウ酸濃度を求め、その差を不溶性シュウ酸濃度とした。前処理後の試料は、イオンクロマトグラフィーにてシュウ酸イオンを定量した。カルシウムイオンは試料をマイクロ波試料前処理装置で分解し、ICP発光分光分析法にてカルシウムイオンを定量した。

3）クワズイモ、はすがらのシュウ酸カルシウム結晶の観察

田中ら[4)]、村上ら[5)]の方法を参考に、クワズイモ及びはすがらの光学顕微鏡観察（倍率100倍）における一視野当たりの束晶細胞数と集晶細胞数を計測した。また、田中ら[6)]の方法を参考に、葉柄横断切片を光学顕微鏡で観察した。

4）PCR法によるクワズイモの鑑別

クワズイモの鑑別には、萩野ら[7)]のクワズイモに特異的なプライマー対を用い、約2 mm角の組織片からキット試薬Phire Plant Direct PCR Master Mix (ThermoFisher Scientific) (ThermoFisher Scientific) を用いてダイレクトPCRを行った。また、各試料からDNA抽出が確実にされているかを確認するため、キット試薬の葉緑体検出用プライマーを用いた。

3　結果

1）シュウ酸カルシウムの含有量

シュウ酸カルシウム濃度を表1に示す。クワズイモとはすがらのシュウ酸カルシウム濃度に差はなかった。

表1　クワズイモ、はすがら、サトイモに含まれるシュウ酸カルシウム濃度

試料	総ｼｭｳ酸 (μmol/g)	可溶性ｼｭｳ酸 (μmol/g)	不溶性ｼｭｳ酸 (μmol/g)	ｶﾙｼｳﾑ (μmol/g)	ｼｭｳ酸ｶﾙｼｳﾑ (μg/g)
クワズイモ	37.3	11.2	26.1	39.4	3.34×10^3
はすがら	30.6	8.19	22.4	35.2	2.87×10^3
サトイモ	7.15	7.00	0.150	4.42	19.2

２）シュウ酸カルシウム結晶

クワズイモ及びはすがらの束晶細胞数、集晶細胞数を表２に示す。クワズイモははすがらに比べ束晶細胞数が多かった。また、クワズイモの束晶細胞は柔組織から通気組織へ突出した形で多数存在していた。

表２　クワズイモ及びはすがらの一視野当たりの束晶細胞数と集晶細胞数

試料	束晶細胞数 (個/一視野)	集晶細胞数 (個/一視野)
クワズイモ	31±12	59±9
はすがら	8±4	602±104

３）PCR によるクワズイモの鑑別

食中毒検体及びクワズイモにおいて、特異的なバンドが確認された（図１）。

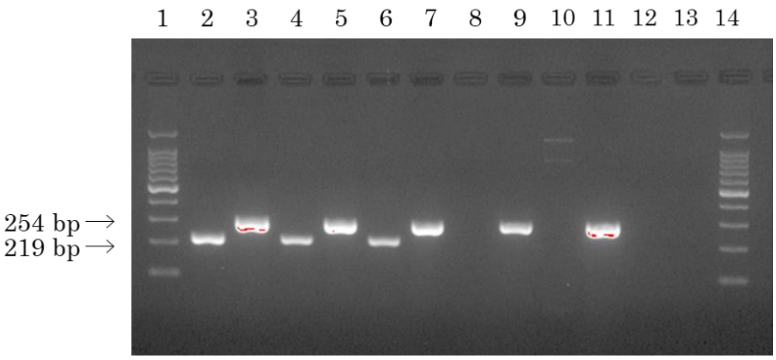

図１.　PCR 産物のアガロースゲル電気泳動

Lane1, 14 : 100 bp ladder marker

DNA ： 喫食味噌汁 (Lane 2, 3) , 味噌汁具材に使用した茎 (Lane 4, 5) , クワズイモ (Lane 6, 7) , はすがら (Lane 8, 9) , サトイモ (Lane 10, 11) , 滅菌水 (Lane 12, 13)

プライマー ： クワズイモ検出用プライマー (Lane 2, 4, 6, 8, 10, 12) , 葉緑体検出用プライマー　(Lane 3, 5, 7, 9, 11, 13)

４　考察

クワズイモとはすがらのシュウ酸カルシウム濃度に差はなかったが、結晶の形状が異なっており、針状結晶を多く含むクワズイモは食中毒になると考えられた。PCR 法は、微量の試料で検体搬入から３時間程度でクワズイモの鑑別ができるため、食中毒発生時に有用であることを確認した。一方、イオンクロマトグラフィーによるシュウ酸カルシウムの定量では、原因物質の特定はできるがクワズイモとはすがらのシュウ酸カルシウム濃度が近く、判別が困難であった。したがって、クワズイモ食中毒発生時は、光学顕微鏡による針状結晶の確認と、PCR 法による植物種の鑑別を組み合わせることが有効であると考えられた。

（参考文献）

１）厚生労働省 ：自然毒のリスクプロファイル, https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/poison/index.html

２）小坂妙子, 山本雄三, 小野和則, 武田攻 ：宮崎県衛生環境研究所年報, **11**, 77-80 (1999)

３）森岡浩文, 樺山恭子, 小玉義和 ：宮崎県衛生環境研究所年報, **20**, 91-93 (2008)

４）田中政信, 中島寿亀, 森欣也 ：園学雑, **72 (6)**, 551-556 (2003)

５）村上賢治, 植田京子 ：岡山大学農学部学術報告, **96**, 25-28 (2007)

６）田中政信, 中島寿亀, 森欣也 ：園学雑, **72 (6)**, 162-168 (2003)

７）萩野賀世, 中野久子, 清水本武, 寺井朗子, 大貝真実, 荒金眞佐子, 阿部朋弘, 笹本剛生 ：食衛誌, **58**, 32-35 (2017)